

- (4) 片岡洋祐 神経への低反応レベルレーザー作用の基礎科学 第 21 回日本レーザー治療学会モーニングセミナー (神戸・神戸国際会議場) 平成 21 年 7 月 4-5 日 (招待講演)
- (5) 大和正典、奥山香里、金光華、江口麻美、渡辺恭良、片岡洋祐 PolyI:C 誘起感染疲労における脳内 Interleukin-1 β の役割 第 32 回日本神経科学大会 (名古屋・名古屋国際会議場) 平成 21 年 9 月 16-18 日
- (6) 崔翼龍、高島忠之、尾上嘉代、宿里充穂、高島好聖、佐古健生、林中恵美、和田康弘、土居久志、尾上浩隆、渡辺恭良、片岡洋祐 MicroPET を用いた片頭痛病態の解析 第 32 回日本神経科学大会 (名古屋・名古屋国際会議場) 平成 21 年 9 月 16-18 日
- (7) 岩井一宏、合田、片岡洋祐 鉄および鉄補欠分子簇の動態調節とその破綻による病態の解明 第 2 回 CREST「代謝調節機構解析に基づく細胞機能制御基盤技術」公開シンポジウム (東京・日本科学未来館) 平成 21 年 10 月 16 日 (シンポジウム)
- (8) 片岡洋祐、金光華、合田亘人、岩井一宏 疲労モデル動物を対象としたメタボローム解析 第 2 回 CREST「代謝調節機構解析に基づく細胞機能制御基盤技術」公開シンポジウム (東京・日本科学未来館) 平成 21 年 10 月 16 日
- (9) 片岡洋祐 低反応レベルレーザーの神経機能への作用 第 11 回先進レーザー応用技術セミナー「バイオメディカルフォトンクス：基礎と臨床の最前線」(横浜・慶應義塾大学矢上キャンパス) 平成 21 年 10 月 30 日 (依頼講演)
- (10) 片岡洋祐 分子イメージングにおけるマイクロレベルとマクロレベルの融合研究 分子イメージング研究シンポジウム 2010 (東京・日経ビル) 平成 22 年 1 月 21-22 日 (シンポジウム)
- (11) 佐古健夫、金山洋介、長谷川功紀、西村三恵、崔翼龍、和田康弘、林中恵美、千田道雄、渡辺恭良、片岡洋祐 糖尿病の予防や早期発見・治療のための膵 β 細胞イメージング 分子イメージング研究シンポジウム 2010 (東京・日経ビル) 平成 22 年 1 月 21-22 日
- (12) 崔翼龍、高島忠之、尾上嘉代、宿里充穂、高島好聖、佐古健生、林中恵美、和田康弘、土居久志、尾上浩隆、渡辺恭良、片岡洋祐 片頭痛病態モデル動物におけるオピオイド受容体の PET イメージング 分子イメージング研究シンポジウム 2010 (東京・日経ビル) 平成 22 年 1 月 21-22 日
- (13) 角田隆巳、片岡洋祐、宇都宮一泰、金原紀章、片岡喜由、米田幸雄 テアニン高含有緑茶抹茶摂取による高齢者の認知症予防効果とその作用機序について 社団法人静岡県茶業会議所内 茶学術研究会 (静岡・ホテルアソシア) 平成 22 年 3 月 11 日
- H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)
1. 特許取得
 - (1) 【出願番号】特願2009-179935
【発明の名称】膵臓内分泌細胞用指示薬、及びその利用
【出願日】平成 21 年 7 月 31 日
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
 - (1) “Unlocking Mysteries of the Brain with PET”と題した米国核医学会からのプレスリリース (October 27, 2009), Cui, Y., Takashima, T., Takashima-Hirano, M., Wada, Y., Shukuri, M., Tamura, Y., Doi, H., Onoe, H., Kataoka, Y., and Watanabe, Y. [11C]PK11195 PET for the in vivo evaluation of neuroinflammation in the rat brain after cortical spreading depression. J. Nucl. Med. 50: 1904-1911 (2009).
 - (2) 日刊工業新聞, 上記内容と同じ, 2009 年 11 月 10 日.

Si/CdTeコンプトンカメラによる複数分子同時イメージングの臨床応用開発に向けた小動物等の撮像実験

分担研究者・高橋忠幸 独立行政法人宇宙航空研究開発機構・宇宙科学研究所 教授

研究要旨：宇宙 γ 線観測技術を活用して構築されたSi/CdTeコンプトンカメラを用いて、小動物や線源を用いた様々な撮像実験が行われ、臨床用撮像装置としての性能や問題点が明らかになった。これらの結果を踏まえ、特に低エネルギー γ 線の撮像に対して有用なSi半導体検出器に関する詳細な検討でその特性が解明された。宇宙 γ 線観測で培われた技術をさらに導入することで、可搬型のコンプトンカメラが構築され、近接撮像による高精度の画像診断が可能になると期待される。

A. 研究目的

当分担研究者が率いる研究グループは、これまでにセンサーとして Si 及び CdTe 半導体検出器を組み合わせた Si/CdTe コンプトンカメラの開発を行っており、既に宇宙 γ 線観測用のプロトタイプを用い、80 keVから600 keVの γ 線に対する Si/CdTe コンプトンカメラによる γ 線イメージングを世界に先駆けて実証することに成功している。このプロトタイプで使用された Si 及び CdTe 検出器も、微細電極形成、バンプ接合、信号処理用VLSI技術などについて分担研究者らが研究開発を重ねてきたものであり、その性能は世界最高レベルを達成している。これらの宇宙科学研究で培われた技術を応用することにより、Si/CdTe コンプトンカメラを臨床用複数分子同時イメージング装置として適用可能であることが期待される。

本研究では、主に共同事業であるNEDOのプロジェクトで臨床応用開発に向けて構築された Si/CdTe コンプトンカメラシステムを用いた小動物等の撮像実験の結果を踏まえ、臨床用撮像装置としての性能や問題点を明らかにし、実用化のための技術開発に有用な情報を得ることを目的とする。

B. 研究方法

Si/CdTeコンプトンカメラのプロトタイプを用いた小動物等の撮像実験のデータを詳しく解析し、臨床用撮像装置としての性能や問題点を検討した。単純逆投影画像のデコンボリューション法等を用いて画像を生成した。これらの結果を、理化学研究所のGe コンプトンカメラで撮像されたデータと比較した。

低エネルギー γ 線の撮像に対して有用な Si 半導体検出器の特性に関して詳しく検討した。これを明らかにするため、検出器の内部での応答について、半導体内部での γ 線の相互作用や、生成される電子やホール拡散過程を考慮した計算機シミュレーション

を行った。

実験データを通じて高精度化したモンテカルロシミュレーターを用いて、小動物撮像用 Si/CdTe コンプトンカメラのデザインの検討を進めた。ASTRO-H 衛星（2014年打ち上げ予定）に搭載する Soft Gamma-ray Detector (SGD) をベースデザインとして、検出器構成や配置の最適化を行った。

（倫理面への配慮）

この研究における動物実験は、当該研究施設の動物実験実施規定、ならびに関連法律や指針を遵守して行われた。

C. 研究結果

正常マウスを用いた複数核種同時イメージング実験で得られたデータを用いて画像再構成を行った結果、特に ^{131}I -Adosterol の画像は、理化学研究所のGe コンプトンカメラで撮像された画像と同様の分布を示す結果が得られた。また、 γ 線源を用いた撮像実験の結果、幅 3 mmの空隙を描出可能であることが明らかになった。

Si 半導体検出器の特性に関する詳細な検討の結果、半導体内部での γ 線の相互作用や、生成される電子やホールの拡散過程を考慮した計算機シミュレーションを行うことで、Si 検出器で得られる γ 線のエネルギースペクトルを精度良く再現できることが明らかになった。これにより、Si 検出器の応答である検出信号の形成過程が解明され、より高度なシステムを開発するための有用な情報が得られた。

小動物撮像用 Si/CdTe コンプトンカメラデザインの検討では、計 4 台のコンプトンカメラをリング状に配置したデザインでの装置性能を調べた。正六面体の頂点に点線源を仮定して、空間分解能を調べたところ、3.56 mm 離れた MBq レベルの点線源を 30 分の計測時間でクリアに分解できる空間分解能が実現できることがわかった。さらに、マウスを

模擬したファントム中で、周辺の正常組織への薬剤の取り込みも考慮したシミュレーションを行った。悪性腫瘍を模擬した直径 10 mm、周辺組織よりも 5 倍の取り込みをもつ領域を 30 分の計測で検出可能であることが分かった。

D. 考察

本研究の撮像実験の研究結果は、Si/CdTe コンプトンカメラが、理化学研究所の Ge コンプトンカメラと同等のイメージング性能を有することを示しており、可搬型の複数分子同時イメージング装置の実現が期待される。

Si 半導体検出器に関する詳細な検討でその特性が解明されたことで、さらに高度化された信号処理系や撮像システムの設計が可能になった。これにより、さらに高性能でコンパクトな Si/CdTe コンプトンカメラの構築が可能になると期待される。

モンテカルロシミュレーションの結果より、SGD 検出器を小動物撮像用に最適化したコンプトンカメラを用いることで、mm レベルの空間分解能を持つ、新しい 3D ガンマ線イメージャーが実現可能であることが分かった。これまでのハードウェアテクノロジーを基礎としつつ、実用機にむけた取り組みを進めてゆく。

E. 結論

宇宙 γ 線観測技術を活用し、NEDO 事業で構築された Si/CdTe コンプトンカメラシステムを用いた小動物等の撮像実験の結果を踏まえた検討の結果、臨床用装置としての撮像性能が明らかになった。また、Si 半導体検出器に関する詳細な検討でその特性が解明されたことで、より高度化された信号処理系や撮像システムの設計が可能になった。宇宙 γ 線観測で培われた技術が導入されることで、可搬型で高性能な Si/CdTe コンプトンカメラが構築され、近接撮像による高精度の画像診断が可能になると期待される。

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) S. Watanabe, S. Ishikawa, H. Aono, S. Takeda, H. Odaka, M. Kokubun, T. Takahashi, K. Nakazawa, H. Tajima, M. Onishi, Y. Kuroda: "High energy resolution hard X-ray and gamma-ray imagers using CdTe diode devices", IEEE Transactions on Nuclear Science, Vol.56(3), 777-782(2009).
- (2) S. Takeda, H. Aono, S. Okuyama, S. Ishikawa, H. Odaka, S. Watanabe, M. Kokubun, T. Takahashi, K. Nakazawa, H. Tajima, N. Kawachi: "Experimental results of the gamma-ray imaging capability with a Si/CdTe semiconductor Compton

camera", IEEE Transactions on Nuclear Science, Vol.56(3), 783-790(2009).

2. 学会発表

- (1) 硬X線・軟 γ 線用CdTe両面ストリップ検出器の基礎性能 (福山太郎, 渡辺伸, 小高裕和, 石川真之介, 杉本宗一郎, 斉藤新也, 国分紀秀, 高橋忠幸, 日本物理学会 第65回年次大会, 2010年3月20日-23日 (岡山県岡山市 岡山大学))
- (2) ASTRO-H衛星搭載硬X線イメージング検出器に用いる電極分割型 CdTe素子の応答の研究 (杉本宗一郎, 小高裕和, 石川真之介, 福山太郎, 斉藤新也, 渡辺伸, 高橋忠幸 (ISAS, 東京大学), 佐藤悟朗, 国分紀秀 (ISAS), 日本天文学会2010年春季年会, 2010年3月24日-27日 (広島県東広島市 広島大学東広島キャンパス))
- (3) 硬X線, γ 線観測に向けたピクセル分割型CdTe半導体撮像検出器の応答 (杉本宗一郎, 小高裕和, 福山太郎, 渡辺伸, 石川真之介, 国分紀秀, 高橋忠幸, 日本物理学会 2009年秋季大会, 2009年9月10日-13日 (兵庫県神戸市 甲南大学岡本キャンパス))
- (4) 宇宙X線観測用75 μ mピッチ両面シリコンストリップ検出器の開発 (斉藤新也, 渡辺伸, 石川真之介, 小高裕和, 杉本宗一郎, 福山太郎, 国分紀秀, 高橋忠幸, 田島宏康, 寺田幸功, 増田智, Sa""m Krucker, 他FOXSIチーム, 日本物理学会 2009年秋季大会, 2009年9月10日-13日 (兵庫県神戸市 甲南大学岡本キャンパス))
- (5) Recent Results of CdTe Diode Double-Sided Strip Detectors (S. Watanabe, S.-N. Ishikawa, H. Odaka, S. Saito, T. Fukuyama, S. Sugimoto, G. Sato, M. Kokubun, T. Takahashi, IEEE 2009 Nuclear Science Symposium and Medical Imaging Conference, Orlando, Florida, Oct. 24-31, 2009)
- (6) Spatial Resolution of Multi-Head Si/CdTe Compton Camera for Medical Application (M. Yamaguchi, N. Kawachi, H. Shimada, S. Watanabe, S.-I. Takeda, H. Aono, S.-N. Ishikawa, H. Odaka, T. Takahashi, K. Arakawa, T. Nakano, Y. Yoshida, Y. Suzuki, S. Watanabe, T. Satoh, IEEE 2009 Nuclear Science Symposium and Medical Imaging Conference, Orlando, Florida, Oct. 24-31, 2009)

- (7) T. Takahashi, S. Watanabe, S. Ishikawa: “High-Resolution CdTe Detector and Application to Gamma-ray Imaging”, Semiconductor Radiation Detection Systems, chapter8, 2010, in press

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

Si/Geおよびアレイ型コンプトンカメラによる複数分子同時イメージング装置の撮像性能向上に関する研究

分担研究者・本村 信治 独立行政法人理化学研究所・神戸研究所・分子イメージング科学研究センター・

複数分子イメージング研究チーム 研究員

研究要旨：Si/Geおよびアレイ型コンプトンカメラによる、複数分子同時イメージング装置としての撮像性能の向上について検討された。両面直交ストリップ電極式Si(Li)検出器は高効率撮像素子のコンパクトな実装が可能であるため、Si/Geコンプトンカメラ用のSi検出器として適していると考えられ、ドップラーブロードニングの影響の効率的な補正の可能性が示された。また、2台のGeコンプトンカメラで構築されたアレイ型コンプトンカメラによる撮像実験で、本手法の有効性が実証され、撮像視野を拡大した高精度の3次元断層撮像が可能になると考えられた。

A. 研究目的

近年の生命科学や関連技術の進歩により、がんや生活習慣病など多くの疾患の発症機序や病態は1種類の関連分子だけで特徴付けられる訳ではなく、遺伝因子と環境因子が複合的に関与した多因子疾患であることが明らかになってきている。そこで、それら複数の因子それぞれを特異的に観察することのできる複数種の分子プローブを同時に投与して画像解析する「複数分子同時イメージング」の実現により、飛躍的に高度な診断情報の取得が可能になると考えられる。

我々は、この複数分子同時イメージングを実現する装置として、半導体コンプトンカメラ「GREI」の開発を行っている。コンプトンカメラは機械的なコリメータを用いないガンマ線撮像装置であり、特に現在のGREIは撮像センサーとしてエネルギー分解能が高い高純度ゲルマニウム(Ge)半導体検出器を用いているため、約200 keV~2 MeVの広いエネルギー範囲のガンマ線を精確に識別した同時撮像が可能である。そこで、それぞれの分子プローブ毎に異なるエネルギーのガンマ線を放出するRIを標識することで、複数分子同時イメージングが可能になる。

しかしながら、撮像するガンマ線のエネルギーが約200 keV以下になると、Ge検出器内で光電吸収が起こる確率が高くなり、効率的なコンプトンイメージングを行う事は現実的ではなくなる。また、1台のコンプトンカメラでは3次元断層撮像が可能な視野が狭く、特にカメラの軸方向の空間分解能特性の低下は避けられない。

本研究では、共同事業であるNEDOの機器開発先端研究プロジェクトで開発中のSi/Geおよびアレイ型コンプトンカメラによる、複数分子同時イメージング装置としての撮像性能の向上について検討する。

B. 研究方法

Si/Geコンプトンカメラ用のSi半導体検出器としては、NEDO事業においてJAXAが常温で動作可能なSiストリップ検出器やSiパッド検出器の開発を進めてきた。これらの検出器はGe半導体検出器のような大掛かりな冷却システムが不要であり、可搬型のコンプ

トンカメラシステムの構築に適していると言える。今年度はこれらの検出器に加えて、リチウムドリフト型Si検出器[Si(Li)検出器]の利用について検討した。Si(Li)検出器は単結晶でも1 cm以上の厚みを持った放射線検出器が実現可能であり、として利用可能である。

また、撮像視野を拡大し、より高精度な3次元断層画像の取得を可能にするため、我々が使用している2台のGeコンプトンカメラを撮像対象の周囲に配置したアレイ型コンプトンカメラを構築した。このアレイ型コンプトンカメラシステムを用いて、2つの⁵⁴Mnの球状ガンマ線源を撮像視野中心に配置し、撮像実験を行った。

C. 研究結果

Si(Li)検出器をSi/Geコンプトンカメラの撮像素子として利用可能にするためには、Geコンプトンカメラの場合と同様に、平板型のSi(Li)検出器の表裏両面の電極を互いに直交する方向のストリップ状に分割した、両面直交ストリップ電極式Si(Li)検出器とすることが考えられる。我々は、有感領域が24 mm×24 mm、厚さ3.5 mmで、表裏それぞれの電極が8本のストリップ状に分割された両面直交ストリップ電極式Si(Li)検出器を理研で準備した。この検出器を用いて、²⁴¹Amから放出されるガンマ線およびX線を計測したところ、1 keV以下の優れたエネルギー分解能が得られた。

また、理研で構築したアレイ型コンプトンカメラシステムを用いて、撮像視野中心に配置した2つの⁵⁴Mnの球状ガンマ線源を撮像した結果、1台のコンプトンカメラのみで撮像した画像中では分離できていなかった2つの球状のガンマ線源が、アレイ型コンプトンカメラで撮像した画像中では明確に分離した3次元画像として描出された。

D. 考察

Si(Li)検出器は、単結晶でも厚い放射線検出器が

実現可能であり、高効率撮像素子のコンパクトな実装が可能であるため、Si/Geコンプトンカメラ用のSi検出器として適していると考えられる。また、理研で準備した両面直交ストリップ電極式Si(Li)検出器は、1 keV以下という優れたエネルギー分解能が実現可能であり、1つのコンプトン散乱事象に対しては散乱角推定精度の理論限界であるドップラーブロードニングの影響を効率的に補正することが可能になると考えられ、コンプトンカメラを用いた低エネルギーガンマ線イメージングのブレークスルーとなる事が期待される。SPECT検査においては、様々な臓器や組織、疾患に応じた多様な放射性医薬品が用いられているが、それらの多くは200 keV以下のガンマ線を放出するRIで標識されている。つまり、そのような低エネルギーのガンマ線をGREIで効率的に撮像することが可能になれば、既に臨床実用されているPETおよびSPECT用の放射性医薬品と、GREIで新たに撮像可能となる放射性薬剤とを同条件で比較した画像解析が可能となり、より信頼性の高い診断情報の取得も可能になると考えられる。

また、2台のGeコンプトンカメラで構築されたアレイ型コンプトンカメラによる撮像実験で、本手法の有効性が実証された。コンプトンカメラの場合、必ずしも対称な位置にカメラを配置する必要は無く、撮像対象に応じた最適化が可能である。使用するコンプトンカメラの台数をより多くすれば、さらに撮像視野を拡大した高精度の3次元断層撮像が可能になると考えられる。

E. 結論

共同事業であるNEDOの機器開発先導研究プロジェクトで開発中のSi/Geおよびアレイ型コンプトンカメラによる、複数分子同時イメージング装置としての撮像性能の向上について検討を行った。約200 keV以下のエネルギーのガンマ線を効率的にコンプトンイメージングするために考案されたSi/Geコンプトンカメラ用のSi検出器として、JAXAが開発中のSiストリップ検出器やSiパッド検出器に加えて、両面直交ストリップ電極式Si(Li)検出器の利用可能性が検討された。Si(Li)検出器は、単結晶でも厚い放射線検出器が実現可能であり、高効率撮像素子のコンパクトな実装が可能であるため、Si/Geコンプトンカメラ用のSi検出器として適していると考えられ、ドップラーブロードニングの影響の効率的な補正の可能性が示された。また、撮像視野を拡大し、より高精度な3次元断層画像の取得の可能性を検討するため、2台のGeコンプトンカメラを撮像対象の周囲に配置したアレイ型コンプトンカメラを構築し、2つの ^{54}Mn の球状ガンマ線源を撮像視野中心に配置して撮像実験を行った。この撮像実験で、本手法の有効性が実証され、使用するコンプトンカメラの台数をより多くすれば、さらに撮像視野を拡大した高精度の3次元

断層撮像が可能になると期待された。

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) 本村 信治, 榎本秀一, 半導体コンプトンカメラによる複数分子同時イメージング法の開発, 電気学会技術報告, 印刷中
- (2) 本村 信治, 榎本 秀一, "複数分子同時イメージングの医療応用実現に向けて: 医療用コンプトンカメラの開発最前線" メディカルバイオ Vol.6 47-52 (2009).
- (3) 金山 洋介, 本村 信治, 榎本 秀一, "半導体コンプトンカメラによる複数分子同時イメージング法の開発" ぶんせき Vol.9 496-501 (2009).
- (4) Motomura S, Fukuchi T, Kanayama Y, Haba H, Watanabe Y, Enomoto S, "Three-dimensional tomographic imaging by semiconductor Compton camera GREI for multiple molecular simultaneous imaging" 2009 IEEE Nuclear Science Symposium Conference Record, Orlando, USA, 2009年10月, IEEE, USA, Piscataway, 3330-3332 (2009).

2. 学会発表

- (1) 本村 信治, 福地 知則, 金山 洋介, 羽場 宏光, 渡辺 恭良, 榎本 秀一, "複数分子同時イメージング実現に向けた半導体コンプトンカメラ GREIによる3次元トモグラフィックイメージング" 第4回日本分子イメージング学会総会・学術集会, 東京, 2009年5月.
- (2) 福地 知則, 本村 信治, 金山 洋介, 羽場 宏光, 渡辺 恭良, 榎本 秀一, "複数分子同時イメージング用コンプトンカメラの高度化" 第4回日本分子イメージング学会総会・学術集会, 東京, 2009年5月.
- (3) 金山 洋介, 本村 信治, 福地 知則, 角田 ちぬよ, 松本 恭子, 和田 康弘, 林中 恵美, 渡辺 恭良, 榎本 秀一, "半導体コンプトンカメラを用いた複数分子腫瘍イメージング" 第4回日本分子イメージング学会総会・学術集会, 東京, 2009年5月.
- (4) Fukuchi T, Motomura S, Kanayama Y, Haba H, Watanabe Y, Enomoto S, "Ge semiconductor Compton camera for multiple molecular imaging" 2nd Asian Congress of Radiation Research (ACRR 2009), Seoul, Korea, 2009年5月.
- (5) Kanayama Y, Motomura S, Fukuchi T, Sumita C,

Matsumoto Y, Hayashinaka E, Wada Y, Watanabe Y, Enomoto S, "In vivo tumor imaging using semiconductor Compton camera" International Symposium on Metallomics (ISM 2009), Cincinnati, USA, 2009年6月.

- (6) 金山 洋介, 本村 信治, 福地 知則, 角田 ちぬよ, 松本 恭子, 林中 恵美, 和田 康弘, 渡辺 恭良, 榎本 秀一, "半導体コンプトンカメラのための分子プローブ探索" 第19回金属の関与する生体関連反応シンポジウム, 吹田, 2009年6月.
- (7) 本村 信治, "半導体コンプトンカメラによる複数分子同時ガンマ線イメージングの開発と現状" 第2回小動物インビボイメージング研究会, 神戸, 2009年7月.
- (8) 本村 信治, "半導体コンプトンカメラによる複数分子同時イメージング法の開発とジョイント研究への期待" 岡山大&理研ジョイントセミナー, 岡山, 2009年9月.
- (9) Enomoto S, Kanayama Y, Motomura S, Fukuchi T, Sumita C, Matsumoto Y, Hayashinaka E, Wada Y, Watanabe Y, "In vivo Imaging of Tumors with Antibody Probes Using Semiconductor Compton Camera" 2009 World Molecular Imaging Congress, Montreal, Canada, 2009年9月.
- (10) Fukuchi T, Motomura S, Kanayama Y, Takeda S, Haba H, Watanabe Y, Enomoto S, "Pulse shape analysis for Ge semiconductor Compton camera" 3rd Joint Meeting of the Nuclear Physics Divisions of the APS and JPS (Hawaii 2009), Hawaii, USA, 2009年10月.
- (11) Motomura S, Fukuchi T, Kanayama Y, Haba H, Watanabe Y, Enomoto S, "Three-dimensional tomographic imaging by semiconductor Compton camera GREI for multiple molecular simultaneous imaging" 2009 IEEE Nuclear Science Symposium and Medical Imaging Conference, Orlando, USA, 2009年10月.
- (12) 本村 信治, "半導体コンプトンカメラ GREI がもたらす分子イメージングの革新" 分子イメージング研究シンポジウム 2010「未来を拓く創薬・疾患診断研究」, 東京, 2010年1月.
- (13) 武田 伸一郎, 榎本 秀一, 福地 知則, 金山 洋介, 齋藤 大地, 廣村 信, 本村 信治, "半導体コンプトンカメラによる複数分子同時イメージング法の

開拓" 分子イメージング研究シンポジウム 2010「未来を拓く創薬・疾患診断研究」, 東京, 2010年1月.

- (14) 金山 洋介, 本村 信治, 福地 知則, 廣村 信, 角田 ちぬよ, 渡辺 恭良, 榎本 秀一, "半導体コンプトンカメラによる複数分子同時イメージング法の開発" 第8回次世代を担う若手のためのフィジカル・ファーマフォーラム岡山 (8th PPF2010 Okayama), 岡山, 2010年3月.
- (15) 福地 知則, 本村 信治, 武田 伸一郎, 金山 洋介, 羽場 宏光, 渡辺 恭良, 榎本 秀一, "デジタル波形解析による半導体コンプトンカメラの高度化" 日本物理学会第65回年次大会, 岡山, 2010年3月.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得
- (1) 本村信治, 榎本秀一, コンプトン撮像カメラ、特許 4486623, 2010.4.2.
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

Geコンプトンカメラによる複数分子同時イメージング法の検証と臨床応用に向けた要素技術開発に関する研究

分担研究者・金山 洋介 独立行政法人理化学研究所・神戸研究所・分子イメージング科学研究センター・

複数分子イメージング研究チーム 研究員

研究要旨：複数の核種でラベルした複数の生体分子を同時にイメージングすることによりこれまででない診断情報を得る複数分子同時イメージング法の実現を目指す。複数分子同時イメージングに適した新規核医学核種および分子プローブの探索、これらを用いた複数分子同時イメージングの有効性の実証、臨床機開発のための問題点抽出を目的とし、既存のGeコンプトンカメラの試作機GREIを用いた小動物等における撮像実験を行う。撮像実験より得られた情報の共同事業のNE D0プロジェクトへのフィードバックにより、さらに機器開発を加速することが期待される。

A. 研究目的

複数分子同時イメージング法の実現のためには装置開発と同時並行して、撮像対象となる分子プローブの開発が必要となる。既存のモダリティで 사용되는分子プローブは一種類のみで使用するを前提としたものであり、複数種類を同時に使用することは考えられていない。このため複数種類を同時に解析することで診断情報が得られる新しい複数分子プローブの探索・開発が必須である。

しかしながら、新しい分子プローブの探索に際して開発途上の GREI を用いて検討することは困難である。なぜならば現在のプロトタイプは感度・空間分解能ともに高性能化を目指した開発段階であり、候補分子の挙動を捉えるには十分ではないためである。そこで、既存の分子イメージング機器を用いてプローブ開発を行い、GREI 用のガンマ線放出核種で標識化することにより複数分子イメージング用プローブへ転換する手法が現時点におけるプローブ探索法として適している。

本研究では、悪性腫瘍診断用複数分子プローブの創出を目標とし、理研分子イメージング科学研究センターに設置されている動物用 PET 装置を用いて担がんマウスを用いたプローブ開発を行った。

B. 研究方法

抗上皮成長因子受容体（Epidermal Growth Factor Receptor：EGFR）抗体（セツキシマブ）、抗 HER2 抗体（トラスツズマブ）、抗血管内皮増殖因子（Vascular Endothelial Growth Factor：VEGF）抗体（ベバシズマブ）の PET プローブ化を行った。まず各抗体に対しキレーター分子である 1,4,7,10-tetraazacyclo dodecane-N,N',N'',N'''-tetraacetic acid (DOTA) を結合した。水溶液中で活性化した DOTA 分子と混合することで容易に結合でき、ゲル濾過カラムを用いて DOTA-セツキシ

マブを精製した。ELISA 法を用いた抗体価の測定により、DOTA 標識条件による抗体価への影響を評価した。また、MALDI-TOF-MS 測定により DOTA 結合数を評価した。作成した DOTA-抗 EGFR 抗体、DOTA-抗 HER2 抗体、DOTA-抗 VEGF 抗体に対し、ポジトロン放出金属核種 ^{64}Cu （半減期 12.7 時間）の標識を行った。各抗体 0.3 nmol あたり ^{64}Cu 600 MBq の割合で混合し、pH6.5、40°C の条件下で 1 時間反応後、遠心濾過カラムユニットを用いて精製を行った。

撮像対象として、BALB/c nu/nu マウスに EGFR 高発現細胞株である A431 株（右肩）、HER2 高発現細胞株 BT474（左肩）、EGFR/HER2 強発現細胞株 SKOV3（右大腿部）、EGFR/HER2 低発現細胞株 C6（ネガティブコントロール、左大腿部）を同時移植した担がんモデルマウスを作成し使用した。腫瘍組織内における EGFR、HER2、VEGF 発現について、蛍光組織免疫染色法及び Western blotting 法により評価した。各標識抗体 20 MBq/0.03 nmol 投与後、24 時間および 48 時間の時点で 30 分間の PET 撮像を行い、各がん部位への集積を検討した。すべての撮像は 1.5%イソフルレン吸入麻酔下で行った。撮像後、解剖して各臓器およびがん部位中の放射能を測定した。

C. 研究結果

ELISA 法を用いた抗体価の評価により、DOTA：抗体比=100：1 の割合で反応させた場合に抗体価を大きく減退させないことが分かった。さらに、TOF-MS の結果、その DOTA 結合数は約 2.7 個であった。 ^{64}Cu 標識、精製後の放射能測定とたんばく濃度測定の結果から、300 MBq/nmol の比放射能で抗体分子プローブを得た。また、各担がんマウスより採取した蛍光組織免疫染色法の結果から、EGFR の発現は A431、SKOV3 のがん組織中で見

られ、BT474 がん組織中でも弱い発現が見られた。HER2 の発現は A431、BT474、SKOV3 のがん組織中でみられ、特に SKOV3 で強い発現が見られた。また VEGF の発現は全てのがん組織中で見られたが、特に A431、C6 がん組織中に強い発現が見られた。また、Western blotting の結果からはほぼ蛍光免疫染色と同様であったが、HER2 発現に関しては BT474 と SKOV3 に特に強い発現が見られた。PET イメージングの結果、⁶⁴Cu-DOTA-抗 EGFR 抗体の A431、SKOV3 がん部位への高集積が見られたが、同時に BT474、C6 がん部位への集積も認められた。また ⁶⁴Cu-DOTA-抗 HER2 抗体は各がん組織へ同等の集積が見られたが、投与後 48 時間の時点では SKOV3 がん部位に特に高い集積が見られた。⁶⁴Cu-DOTA-抗 VEGF 抗体に関しては、A431、C6 がん部位に集積が見られた。解剖後の放射能測定では、各がん部位、肝臓、血液中に高い放射能があり、PET 結果と同様の集積が確認できた。

D. 考察

現在の GREI に適した撮像条件として、長時間撮像が可能な長い生物学的半減期、より少ないカウント数で検出可能な局所集積性が挙げられる。このような特徴を有する分子として、高い抗原特異性をもち血中安定性の高い抗体の分子プローブ化が有効と考えられる。さらに、がん治療に用いられる抗体医薬は、医薬品として非常に高い特異性が求められるため、プローブ化後も高い特異的集積が見込まれる。本研究で用いたセツキシマブ、トラスツズマブ、ベバシズマブはいずれもがん治療に用いられる分子標的治療薬であり、これらの分子プローブ化は薬剤の適応診断、治療効果のモニタリングなどにおいて非侵襲的な評価系が確立されることにつながり、意義は大きい。さらに、EGFR、HER2 はがん細胞自体に高発現する分子であり、VEGF は細胞株では発現が見られないががん組織中では発現が見られる、がん微小環境を構成する分子である。この様子ががん細胞とその微小環境に発現する複数の分子を同時に解析することで、様々ながんに対応したイメージングが可能になり、またがん悪性度などの評価が可能になると考えられる。

本研究では ⁶⁴Cu-DOTA-抗 EGFR 抗体、⁶⁴Cu-DOTA-抗 HER2 抗体、⁶⁴Cu-DOTA-抗 VEGF 抗体が 48 時間まで腫瘍部位へ特異的・局所的に高集積することが確認できた。周囲組織との集積コントラストも大きく、有用な複数分子プローブとなり得る。

E. 結論

本研究によって ⁶⁴Cu-DOTA-抗 EGFR 抗体、⁶⁴Cu-DOTA-抗 HER2 抗体、⁶⁴Cu-DOTA-抗 VEGF 抗体ががん複数分子イメージングに有用であること

が示唆された。今後これらを他の γ 線放出金属核種 (⁵⁴Mn、⁶⁵Zn など) で標識することにより、GREI 撮像を可能にするとともに、がん複数分子イメージング法の検討が実現できると思われる。がん複数分子同時イメージングに適用可能な 3 分子についてプローブ化に成功した。

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) 金山 洋介, 本村 信治, 榎本 秀一, "半導体コンプトンカメラによる複数分子同時イメージング法の開発" *ぶんせき* Vol.9 496-501 (2009).
- (2) Motomura S, Fukuchi T, Kanayama Y, Haba H, Watanabe Y, Enomoto S, "Three-dimensional tomographic imaging by semiconductor Compton camera GREI for multiple molecular simultaneous imaging" 2009 IEEE Nuclear Science Symposium Conference Record, Orlando, USA, 2009 年 10 月, IEEE, USA, Piscataway, 3330-3332 (2009).

2. 学会発表

- (1) 本村 信治, 福地 知則, 金山 洋介, 羽場 宏光, 渡辺 恭良, 榎本 秀一, "複数分子同時イメージング実現に向けた半導体コンプトンカメラ GREI による 3 次元トモグラフィックイメージング" 第 4 回日本分子イメージング学会総会・学術集会, 東京, 2009 年 5 月.
- (2) Siw Eric, 南 香莉, 長谷川 功紀, 野崎 聡, 金山 洋介, 渡辺 恭良, 小山 幸一, 田中 克典, 深瀬 浩一, "アスパラギン結合型糖タンパク質糖鎖クラスターの蛍光および PET イメージング" 日本ケミカルバイオロジー学会第 4 回年会, 神戸, 2009 年 5 月.
- (3) 金山 洋介, 本村 信治, 福地 知則, 角田 ちぬよ, 松本 恭子, 和田 康弘, 林中 恵美, 渡辺 恭良, 榎本 秀一, "半導体コンプトンカメラを用いた複数分子腫瘍イメージング" 第 4 回日本分子イメージング学会総会・学術集会, 東京, 2009 年 5 月.
- (4) 福地 知則, 本村 信治, 金山 洋介, 羽場 宏光, 渡辺 恭良, 榎本 秀一, "複数分子同時イメージング用コンプトンカメラの高度化" 第 4 回日本分子イメージング学会総会・学術集会, 東京, 2009 年 5 月.

- (5) Fukuchi T, Motomura S, Kanayama Y, Haba H, Watanabe Y, Enomoto S, "Ge semiconductor Compton camera for multiple molecular imaging" 2nd Asian Congress of Radiation Research (ACRR 2009), Seoul, Korea, 2009年5月.
- (6) Kanayama Y, Motomura S, Fukuchi T, Sumita C, Matsumoto Y, Hayashinaka E, Wada Y, Watanabe Y, Enomoto S, "In vivo tumor imaging using semiconductor Compton camera" International Symposium on Metallomics (ISM 2009), Cincinnati, USA, 2009年6月.
- (7) 金山 洋介, 本村 信治, 福地 知則, 角田 ちぬよ, 松本 恭子, 林中 恵美, 和田 康弘, 渡辺 恭良, 榎本 秀一, "半導体コンプトンカメラのための分子プローブ探索" 第19回金属の関与する生体関連反応シンポジウム, 吹田, 2009年6月.
- (8) Enomoto S, Kanayama Y, Motomura S, Fukuchi T, Sumita C, Matsumoto Y, Hayashinaka E, Wada Y, Watanabe Y, "In vivo Imaging of Tumors with Antibody Probes Using Semiconductor Compton Camera" 2009 World Molecular Imaging Congress, Montreal, Canada, 2009年9月.
- (9) Kanayama Y, Sumita C, Hasegawa K, Wada Y, Hayashinaka E, Enomoto S, Kojima S, Watanabe Y, "PET imaging of proteolytic TGF-beta1 activation reaction in mice" 2009 World Molecular Imaging Congress, Montreal, Canada, 2009年9月.
- (10) Tanaka K, Siwu E, Minami K, Hasegawa K, Nozaki S, Kanayama Y, Watanabe Y, Koyama K, Fukase K, "In vivo imaging of N-glycan dendrimers by fluorescence- and positron emission tomography (PET)" 28th Conference on Combinatorial Chemistry, Japan Senri Life Science Center, Japan, 2009年9月.
- (11) Fukuchi T, Motomura S, Kanayama Y, Takeda S, Haba H, Watanabe Y, Enomoto S, "Pulse shape analysis for Ge semiconductor Compton camera" 3rd Joint Meeting of the Nuclear Physics Divisions of the APS and JPS (Hawaii 2009), Hawaii, USA, 2009年10月.
- (12) Motomura S, Fukuchi T, Kanayama Y, Haba H, Watanabe Y, Enomoto S, "Three-dimensional tomographic imaging by semiconductor Compton camera GREI for multiple molecular simultaneous imaging" 2009 IEEE Nuclear Science Symposium and Medical Imaging Conference, Orlando, USA, 2009年10月.
- (13) 桐田 暁子, 原 祥子, 松浦 知和, 金山 洋介, 角田 ちぬよ, 長谷川 功紀, 渡辺 恭良, 小嶋 聡一, "TGF-b活性化反応を検出するサンドイッチELISA法を用いた臨床検体の測定と、PETプローブによる炎症部位のLAP断片集積の観察" 第23回肝類洞壁細胞研究会学術集会, 大阪, 2009年12月.
- (14) 武田 伸一郎, 榎本 秀一, 福地 知則, 金山 洋介, 齋藤 大地, 廣村 信, 本村 信治, "半導体コンプトンカメラによる複数分子同時イメージング法の開拓" 分子イメージング研究シンポジウム 2010「未来を拓く創薬・疾患診断研究」, 東京, 2010年1月.
- (15) 佐古 健生, 金山 洋介, 長谷川 功紀, 西村 三恵, 崔 翼龍, 片岡 洋祐, 和田 康弘, 林中 美, 千田 道雄, 渡辺 恭良, "糖尿病の予防や早期発見・治療のための膵β細胞イメージング" 分子イメージング研究シンポジウム 2010「未来を拓く創薬・疾患診断研究」, 東京, 2010年1月.
- (16) 金山 洋介, "抗体などの認識分子活性を活用した分子イメージングの開発とその利用" 「TGF-β活性化反応を標的とした肝疾患の新規診断法, 治療・予防法の開発」 研究班シンポジウム, 豊中, 2010年2月.
- (17) 福地 知則, 本村 信治, 武田 伸一郎, 金山 洋介, 羽場 宏光, 渡辺 恭良, 榎本 秀一, "デジタル波形解析による半導体コンプトンカメラの高度化" 日本物理学会第65回年次大会, 岡山, 2010年3月.
- (18) 金山 洋介, 本村 信治, 福地 知則, 廣村 信, 角田 ちぬよ, 渡辺 恭良, 榎本 秀一, "半導体コンプトンカメラによる複数分子同時イメージング法の開発" 第8回次世代を担う若手のためのフィジカル・ファーマフォーラム岡山 (8th PPF2010 Okayama), 岡山, 2010年3月.
- (19) 八木 克治, 東川 桂, 渡邊 恵子, 村上 純, 廣村 信, 金山 洋介, 榎本 秀一, "マウス大腸癌におけるCTLA-4による腫瘍イメージング法の検討" 第8回次世代を担う若手のためのフィジカル・ファーマフォーラム岡山 (8th PPF2010

Okayama), 岡山, 2010 年 3 月.

- (20) 東川 桂, 八木 克治, 渡邊 恵子, 加来田 博貴, 金山 洋介, 廣村 信, 榎本 秀一, "炎症性サイトカインを標的とする潰瘍性大腸炎診断プローブの探索" 日本薬学会第 130 年会, 岡山, 2010 年 3 月.
- (21) 八木 克治, 東川 桂, 渡邊 恵子, 村上 純, 廣村 信, 金山 洋介, 榎本 秀一, "マウス大腸癌における CTLA-4 による腫瘍イメージング法の検討" 日本薬学会第 130 年会 岡山 2010 年 3 月.
- (22) 竹中 文章, 神野 伸一郎, 北村 陽二, 金山 洋介, 榎本 秀一, 秋澤 宏行, 荒野 泰, "N 末アミノ酸を置換した ^{111}In -DOTA 結合 octreotide 誘導体の体内動態に関する検討" 日本薬学会第 130 年会, 岡山, 2010 年 3 月.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

複数分子同時 γ 線イメージング装置に利用可能な新規核医学核種の探索とRI製造に関する研究

分担研究者・羽場 宏光 独立行政法人理化学研究所 仁科加速器研究センター 専任研究員

研究要旨：本研究は、複数の核種でラベルした複数の生体分子などを同時イメージングすることで新たな分子イメージングモダリティとして創出するため、コンプトンカメラ方式の多核種同時イメージング装置を採用した。当該装置に利用可能なプローブとなる新規医薬品に標識可能な新規核医学核種の探索を行い、複数分子イメージング機器の臨床装置に使用可能な新核種の製造と供給を目指す。本年度は小型サイクロトロンを用いて長半減期ポジトロン放出金属核種 ${}^{64}\text{Cu}$ 製造法の構築を試み、PETを用いたプローブ探索や複数分子イメージングに適用するのに十分な放射能を製造することに成功し、高い純度で精製可能なことを実証した。

A. 研究目的

画像診断装置の開発においては、プローブとなる新規医薬品の開発と同時に、新規核医学核種探索とその標識方法の確立が必要である。現在、理化学研究所分子イメージング科学研究センターでは抗体、核酸、ペプチドなど様々な生体分子を PET イメージングプローブとする手法として、これら分子にキレート分子 1,4,7,10-tetraazacyclo dodecane-N,N',N'',N'''-tetraacetic acid (DOTA) を結合した後、ポジトロン放出金属核種により標識する手法が採られている。昨年度までに標識に用いる核種として ${}^{68}\text{Ge}$ - ${}^{68}\text{Ga}$ ジェネレータにより容易に入手可能な ${}^{68}\text{Ga}$ 、小型サイクロトロンで製造可能な ${}^{64}\text{Cu}$ の製造法を確立し、プローブ化に成功してきた。半導体コンプトンカメラ GREI による複数分子同時イメージング実現のためには、これらを他のガンマ線放出核種で標識することが必要となる。そこで、本研究ではこれまでに理化学研究所で製造法が確立できた ${}^{65}\text{Zn}$ と、市販されている ${}^{54}\text{Mn}$ 、 ${}^{59}\text{Fe}$ を用いたプローブ標識法の検討を行った。また、これらの他に GREI イメージングに適用可能でサイクロトロン製造の可能な核種の探索を行った。

B. 研究方法

${}^{65}\text{Zn}$ 及び市販の ${}^{54}\text{Mn}$ 、 ${}^{59}\text{Fe}$ を用いた標識法の検討を行った。pH2、3.5、5、6.5 と溶媒温度 40°C、95°C の条件下でそれぞれ DOTA-オクトレオチドとの反応を行い、標識率を評価した。また、サイクロトロンで製造可能かつ GREI 撮像に利用可能なガンマ線エネルギー、半減期を有する放射性核種について *in silico* スクリーニングによる探索を行った。

C. 研究結果

${}^{65}\text{Zn}$ は ${}^{64}\text{Cu}$ の抗体標識に用いる pH6.5、40°C の条件下ではほとんど標識されず、温度を 95°C に上げるといずれの pH でも 90% 以上の高標識率を得ることができた。市販の ${}^{54}\text{Mn}$ はいずれの条件でもほとんど標

識されず、pH が高い条件下では 40°C、95°C に加熱することで不純物と思われる茶褐色の析出、沈殿が見られた。 ${}^{59}\text{Fe}$ も ${}^{54}\text{Mn}$ 同様にいずれの条件でも低い標識率であり、pH3.5 以上では茶褐色の析出、沈殿が見られた。高い比放射能にも関わらず含有する他の金属元素不純物によってほとんど標識できないことがわかった。

GREI イメージングに利用可能な新規核医学核種については、製造の実現可能性、 γ 線エネルギーなどから検討した結果、以下のものが候補として挙げられた。大型加速器と濃縮同位体を利用した核種製造が必要となるが、①臨床で使用可能な程度の短・中半減期を有する核種として ${}^{52}\text{Mn}$ (半減期 5.6 日、 ${}^{52}\text{Cr}(p,n){}^{52}\text{Mn}$ 核反応などで製造可能)、 ${}^{63}\text{Zn}$ (半減期 38.1 分、 ${}^{63}\text{Cu}(p,n){}^{63}\text{Zn}$)、 ${}^{76}\text{Br}$ (半減期 16 時間、 ${}^{76}\text{Se}(p,n){}^{76}\text{Br}$ など)、 ${}^{94}\text{Tc}$ (4.9 時間、 ${}^{94}\text{Mo}(p,n){}^{94}\text{Tc}$)、 ${}^{124}\text{I}$ (半減期 4.15 日、 ${}^{124}\text{Te}(p,n){}^{124}\text{I}$) ②臨床検査に用いるには半減期が長いものの小動物実験など基礎研究に利用可能な核種として ${}^{48}\text{V}$ (半減期 15.97 日、 ${}^{48}\text{Ti}(p,n){}^{48}\text{V}$ で製造可能)、 ${}^{51}\text{Cr}$ (半減期 27.7 日、 ${}^{51}\text{V}(p,n){}^{51}\text{Cr}$)、 ${}^{54}\text{Mn}$ (半減期 312.2 日、 ${}^{54}\text{Cr}(p,n){}^{54}\text{Mn}$)、 ${}^{56}\text{Co}$ (半減期 77.26 日、 ${}^{56}\text{Fe}(p,n){}^{56}\text{Co}$)、 ${}^{85}\text{Sr}$ (半減期 64.9 日、 ${}^{85}\text{Rb}(p,n){}^{85}\text{Sr}$)、 ${}^{88}\text{Y}$ (半減期 106.6 日、 ${}^{88}\text{Sr}(p,n){}^{88}\text{Y}$)。

D. 考察

本研究により、放射性 Zn 同位体のペプチド標識条件が確定できた。しかしながら加熱により構造が変化してしまう抗体など高分子に関してはこの反応条件を用いることはできないため、より温和な条件下で反応可能なキレート剤の探索が必須と考えられる。また、市販 ${}^{54}\text{Mn}$ は高比放射能であるにも関わらず、標識ができず、また茶褐色の沈殿が見られたことから、多量の金属不純物が含まれていることが示唆された。そこで更に、イオン交換カラムによる精製を試みたが、Mn と他の金属の分配比に大きな差をつけ

る条件がなく、十分な精製率を得ることは困難であった。したがって、 ^{54}Mn の標識利用には大型加速器を用いて高純度の ^{54}Mn を製造使用する必要があると思われる。また、 ^{59}Fe に関しては、市販品の比放射能が低く低標識率であったが、中性子照射以外による製造が必要で高比放射能を得ることが困難であり、抗体分子の標識には適さないと考えられる。また、今回挙げた GREI イメージングに適用可能な放射性核種の内、 ^{52}Mn 、 ^{63}Zn 、 ^{76}Br 、 ^{124}I は陽電子を放出の割合が数十%以上あり、PET 診断核種としての併用も考えられる(^{76}Br 、 ^{124}I は既に製造法や PET イメージングについて多数の報告がある)。上記には既に市販されている核種や製造技術を確認した核種も含まれるが、GREI での複数分子同時イメージングを実現するためには、高純度・高比放射能な放射性核種製造法の確立と、 ^{64}Cu と同程度の温和な反応条件で標識可能な核種ごとに適したキレート化合物が必要と言える。

E. 結論

本研究によりペプチドなど熱に耐性のある小分子に関しては複数核種での標識 (^{64}Cu と ^{65}Zn または ^{68}Ga と ^{65}Zn など) が可能となった。しかし、熱により活性が失われる抗体など大分子に関してはそれぞれの核種に適した温和な反応条件による標識方法の探索が必要である。今回挙げた候補核種についても、標識可能な反応条件が確立された後に、高純度・高比放射能な製造法の確立を行うべきである。

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Inamura T, Haba H, "Search for a "3.5-eV isomer" in ^{229}Th in a hollow-cathode electric discharge" *Physical Review C*, 79(3), 034313-1-034313-10 (2009) .
- (2) Haba H, Kaji D, Komori Y, Kudou Y, Morimoto K, Morita K, Ooe K, Ohzeki K, Sato N, Shinohara A, Yoneda A, "RIKEN Gas-filled Recoil Ion Separator (GARIS) as a promising interface for superheavy element chemistry : Production of element 104, ^{261}Rf , using the GARIS/gas-jet system" *Chemistry Letters*, 38(5), 426-427 (2009).
- (3) Akiyama K, Haba H, Sueki K, Tsukada K, Asai M, Toyoshima A, Nagame Y, Katada M, " ^{225}Ac metallofullerene: toward ^{225}Ac nanogenerator in fullerene", *Chemistry Letters*, 38(10), 978-979 (2009).
- (4) Haba H, Akiyama K, Tsukada K, Asai M, Toyoshima A, Yaita T, Hirata M, Sueki K, Nagame Y, "Chloride Complexation of Zr and Hf in HCl Investigated by Extended X-ray Absorption Fine Structure Spectroscopy: Toward Characterization of Chloride Complexation of Element 104, Rutherfordium (Rf)" *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 82(6), 698-703 (2009) .
- (5) Akiyama K, Haba H, Tsukada K, Asai M, Toyoshima A, Sueki K, Nagame Y, Katada M, "A metallofullerene that encapsulates ^{225}Ac " *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 280(2), 329-331 (2009) .
- (6) Toyoshima A, Kasamatsu Y, Tsukada K, Asai M, Kitatsuji Y, Ishii Y, Toume H, Nishinaka I, Haba H, Ooe K, Sato W, Shinohara A, Akiyama K, Nagame Y, "Oxidation of element 102, nobelium, with flow electrolytic column chromatography on an atom-at-a-time scale" *Journal of the American Chemical Society*, 131(26), 9180-9181 (2009) .
- (7) Kasamatsu Y, Toyoshima A, Asai M, Tsukada K, Li Z, Ishii Y, Sato T, Nishinaka I, Kikuchi T, Haba H, Kudou Y, Sato N, Oura Y, Akiyama K, Ooe K, Fujisawa H, Shinohara A, Goto S, Kudo H, Araki M, Nishikawa M, Yokoyama A, Nagame Y, "Anion-exchange experiment of Db with 0.31 M HF/0.10 M HNO_3 solution" *JAEA-Review*, 2009-036, 67-68 (2009) .
- (8) Kasamatsu Y, Toyoshima A, Asai M, Tsukada K, Li Z, Ishii Y, Toume H, Sato T, Kikuchi T, Nishinaka I, Nagame Y, Haba H, Kikunaga H, Kudou Y, Oura Y, Akiyama K, Sato W, Ooe K, Fujisawa H, Shinohara A, Goto S, Hasegawa Taichi, Kudo H, Nanri T, Araki M, Kinoshita N, Yokoyama A, Fan F, Qin Z, Duellman C, Schaedel M, Kratz J, "Anionic Fluoro Complex of Element 105, Db" *Chemistry Letters*, 38(11), 1084-1085 (2009) .
- (9) Kikunaga H, Kasamatsu Y, Haba H, Mitsugashira T, Hara M, Takamiya K, Ohtuki T, Yokoyama A, Nakanishi T, Shinohara A, "Half-life estimation of the first excited state of ^{229}Th by using α -particle spectrometry" *Physical Review C*, 80(3), 034315-1-034315-4 (2009).
- (10) Kaji D, Morimoto K, Sato N, Ichikawa T, Ideguchi E, Ozeki K, Haba H, Koura H, Kudou Y, Ozawa A, Sumita T, Yamaguchi T, Yoneda A, Yoshida A, Morita K, "Production and decay properties of ^{263}Hs " *Journal of the Physical Society of Japan*, 78(3), 035003/1-035003/2 (2009).

- (11) Morita K, Morimoto K, Kaji D, Haba H, Ozeki K, Kudou Y, Sato N, Sumita T, Yoneda A, Ichikawa T, Fujimori Y, Goto S, Ideguchi E, Kasamatsu Y, Katori K, Komori Y, Koura H, Kudo H, Ooe K, Ozawa A, Tokanai F, Tsukada K, Yamaguchi T, Yoshida A., "Decay properties of ^{266}Bh and ^{262}Db produced in the $^{248}\text{Cm} + ^{23}\text{Na}$ reaction", Journal of the Physical Society of Japan, 78(6), 064201/1-064201/6 (2009).
- (12) Motomura.S, Fukuchi.T, Kanayama.Y, Haba H, Watanabe.Y, Enomoto.S, "Three-dimensional tomographic imaging by semiconductor Compton camera GREI for multiple molecular simultaneous imaging" 2009 IEEE Nuclear Science Symposium Conference Record, Orlando, USA, IEEE, USA, Piscataway, 3330-3332 (2009).
- (13) H. Haba, D. Kaji, Y. Kasamatsu, H. Kikunaga, Y. Komori, Y. Kudou, K. Morimoto, K. Morita, K. Ooe, K. Ozeki, N. Sato, A. Shinohara, A. Toyoshima, A. Yokoyama, A. Yoneda, and T. Yoshimura, "Superheavy Element Nuclear Chemistry at RIKEN" AIP Conf. Proc. (in press).
2. 学会発表
- (1) 佐藤 哲也, 浅井 雅人, 塚田 和明, 豊嶋 厚史, 笠松 良崇, Li Zijie, 石井 康雄, 羽場 宏光, 後藤 真一, 工藤 久昭, 永目 諭一郎, "106 番元素 Sg のためのオンライン気相化学分離装置の開発" 日本化学会第 89 春季年会, 船橋, 2009 年 3 月.
- (2) 本村 信治, 福地 知則, 金山 洋介, 羽場 宏光, 渡辺 恭良, 榎本 秀一, "複数分子同時イメージング実現に向けた半導体コンプトンカメラ GREI による 3 次元トモグラフィックイメージング" 第 4 回日本分子イメージング学会総会・学術集会, 東京, 2009 年 5 月.
- (3) 福地 知則, 本村 信治, 金山 洋介, 羽場 宏光, 渡辺 恭良, 榎本 秀一, "複数分子同時イメージング用コンプトンカメラの高度化" 第 4 回日本分子イメージング学会総会・学術集会, 東京, 2009 年 5 月.
- (4) Fukuchi T, Motomura S, Kanayama Y, Haba H, Watanabe Y, Enomoto S, "Ge semiconductor Compton camera for multiple molecular imaging" 2nd Asian Congress of Radiation Research (ACRR 2009), Seoul, Korea, 2009 年 5 月.
- (5) 笠松 良崇, 豊嶋 厚史, 浅井 雅人, 塚田 和明, Li Zijie, 石井 康雄, 佐藤 哲也, 西中 一朗, 菊池 貴宏, 羽場 宏光, 工藤 祐生, 佐藤 望, 大浦 泰嗣, 秋山 和彦, 大江 一弘, 藤沢 弘幸, 篠原 厚, 後藤 真一, 工藤 久昭, 荒木 幹生, 西川 恵, 横山 明彦, 永目 諭一郎, "HF/HNO₃ 水溶液系における 105 番元素 Db の陰イオン交換挙動" 2009 日本放射化学会年会・第 53 回放射化学討論会, 東京, 2009 年 9 月.
- (6) 笠松 良崇, 羽場 宏光, 江崎 豊, "超重元素化学実験に向けたサマリウム共沈□線源作成法の開発" 2009 日本放射化学会年会・第 53 回放射化学討論会, 東京, 2009 年 9 月.
- (7) 江崎 豊, 笠松 良崇, 羽場 宏光, " ^{181}Hf 標的を用いた希土類元素マルチトレーサーの製造" 2009 日本放射化学会年会・第 53 回放射化学討論会, 東京, 2009 年 9 月.
- (8) 羽場 宏光, "超重元素の化学 - 反跳核分離装置を用いた新たな展開 - " 2009 日本放射化学会年会・第 53 回放射化学討論会, 東京, 2009 年 9 月.
- (9) 羽場 宏光, 大江一弘, 大関和貴, 笠松良崇, 加治大哉, 工藤祐生, 小森有希子, 佐藤 望, 篠原厚, 森田浩介, 森本幸司, 米田 晃, "GARIS 直結型ガスジェット搬送システムによる超重元素化学実験対象核種 ^{261}Rf の製造" 2009 日本放射化学会年会・第 53 回放射化学討論会, 東京, 2009 年 9 月.
- (10) 大江 一弘, 矢作 亘, 小森 有希子, 藤沢 弘幸, 高山 玲央奈, 菊永 英寿, 吉村 崇, 高橋 成人, 羽場 宏光, 工藤 祐生, 江崎 豊, 高久 圭二, 篠原 厚, "106 番元素シーボーギウムの同族元素モリブデンの溶媒抽出挙動" 2009 日本放射化学会年会・第 53 回放射化学討論会, 東京, 2009 年 9 月.
- (11) 豊嶋 厚史, 塚田 和明, 浅井 雅人, 佐藤 哲也, Li Zijie, 佐藤 望, 菊池 貴宏, 北辻 章浩, 永目 諭一郎, 大江 一弘, 篠原 厚, 笠松 良崇, 羽場 宏光, "電気化学的手法による 101 番元素メンデレビウムの還元" 2009 日本放射化学会年会・第 53 回放射化学討論会 東京, 2009 年 9 月.
- (12) Ooe K, Yahagi W, Komori Y, Fujisawa H, Takayama R, Kikunaga H, Yoshimura T, Takahashi N, Haba H, Kudou Y, Ezaki Y, Takahisa K, Shinohara A, "Solvent Extraction Studies of Molybdenum and Tungsten as Homologues of Seaborgium (Element 106)" 7th Workshop on the Chemistry of the Heaviest Elements, Mainz, Germany, 2009 年 10 月.
- (13) Kasamatsu Y, Toyoshima A, Asai M, Tsukada K, Li Z,

- Ishii Y, Sato T, Nishinaka I, Kikuchi T, Nagame Y, Haba H, Kikunaga H, Kudou Y, Sato N, Oura Y, Akiyama K, Sato W, Ooe K, Fujisawa H, Shinohara A, Goto S, Kudo H, Araki M, Kinoshita N, Nishikawa M, Yokoyama A, Fan F, Qin Z, Duellmann C, "Anion-exchange experiment of Db with AIDA-II" 7th Workshop on the Chemistry of the Heaviest Elements, Mainz, Germany, 2009 年 10 月.
- (14) Nagame Y, Akiyama K, Asai M, Haba H, Ishii Y, Kasamatsu Y, Li Z, Sato T, Toyoshima A, Tsukada K, "Aqueous chemistry of Rf and Db" 7th Workshop on the Chemistry of the Heaviest Elements, Mainz, Germany, 2009 年 10 月.
- (15) Toyoshima A, Kasamatsu Y, Tsukada K, Asai M, Kitatsuji Y, Ishii Y, Nishinaka I, Haba H, Ooe K, Sato W, Shinohara A, Akiyama K, Nagame Y, "Electrochemical studies of the heaviest actinides" 7th Workshop on the Chemistry of the Heaviest Elements, Mainz, Germany, 2009 年 10 月.
- (16) H. Haba, D. Kaji, Y. Kasamatsu, Y. Komori, Y. Kudou, K. Morimoto, K. Morita, K. Ooe, K. Ozeki, N. Sato, A. Shinohara, T. Sumita, K. Tsukada, A. Yoneda, "RIKEN GARIS as a Promising Interface for Superheavy Element Chemistry –Production of ^{261}Rf Using the GARIS/Gas-jet System-" Seventh Workshop on the Chemistry of the Heaviest Elements, Mainz, Germany, 2009 年 10 月.
- (17) Fukuchi T, Motomura S, Kanayama Y, Takeda S, Haba H, Watanabe Y, Enomoto S, "Pulse shape analysis for Ge semiconductor Compton camera" 3rd Joint Meeting of the Nuclear Physics Divisions of the APS and JPS (Hawaii 2009) Hawaii USA 2009 年 10 月.
- (18) Motomura S, Fukuchi T, Kanayama Y, Haba H, Watanabe Y, Enomoto S, "Three-dimensional tomographic imaging by semiconductor Compton camera GREI for multiple molecular simultaneous imaging" 2009 IEEE Nuclear Science Symposium and Medical Imaging Conference, Orlando, USA, 2009 年 10 月.
- (19) Kikunaga H, Fujisawa H, Ooe K, Takayama R, Shinohara A, Takamiya K, Kasamatsu Y, Ezaki Y, Haba H, Nakanishi T, Mitsugashira T, Hirose K, Ohtuki T, "Precision measurement of the half-life of $^{90\text{m}}\text{Nb}$ and $^{99\text{m}}\text{Tc}$ " Asia-Pacific Symposium on Radiochemistry '09 (APSORC '09), Napa, USA, 2009 年 11-12 月.
- (20) Nagame Y, Asai M, Ishii Y, Kikuchi T, Li Z, Sato T, Toyoshima A, Tsukada K, Kasamatsu Y, Haba H, Akiyama K, "Chemical investigation of Rf and Db at JAEA" Asia-Pacific Symposium on Radiochemistry '09 (APSORC '09), Napa, USA, 2009 年 11-12 月.
- (21) Komori Y, Ooe K, Yahagi W, Fujisawa H, Takayama R, Kikunaga H, Yoshimura T, Takahashi N, Takahisa K, Haba H, Kudou Y, Kasamatsu Y, Shinohara A, "Development of an on-line liquid scintillation α -particle detection system for aqueous chemical studies of superheavy elements" Asia-Pacific Symposium on Radiochemistry '09 (APSORC '09), Napa, USA, 2009 年 11-12 月.
- (22) Toyoshima A, Tsukada K, Asai M, Kitatsuji Y, Ishii Y, Sato T, Li Z, Sato N, Kikuchi T, Nishinaka I, Nagame Y, Kasamatsu Y, Haba H, Ooe K, Shinohara A, Sato W, Akiyama K, "Electrochemistry of the heaviest elements at JAEA" Asia-Pacific Symposium on Radiochemistry '09 (APSORC '09), Napa, USA, 2009 年 11-12 月.
- (23) Ezaki Y, Haba H, Kasamatsu Y, "Production of Rare Earth Multitracer from ^{181}Hf with 125- Nucleon ^{14}N IONS" Asia-Pacific Symposium on Radiochemistry '09 (APSORC '09), Napa, USA, 2009 年 11-12 月.
- (24) Ooe K, Komori Y, Fujisawa H, Takayama R, Kikunaga H, Yoshimura T, Takahashi N, Haba H, Kudou Y, Ezaki Y, Shinohara A, "Extraction behavior of carrier-free and macro amounts of molybdenum and tungsten from HCl solution" Asia-Pacific Symposium on Radiochemistry '09 (APSORC '09), Napa, USA, 2009 年 11-12 月.
- (25) Takayama R, Ooe K, Yahagi W, Fujisawa H, Komori Y, Kikunaga H, Yoshimura T, Takahashi N, Takahisa K, Haba H, Kudou Y, Ezaki Y, Toyoshima A, Asai M, Nagame Y, Saitou T, Mitsugashira T, Shinohara A, "Solvent Extraction of Trivalent Actinides with Di(2-Ethylhexyl) Phosphoric Acid and Thenoyltrifluoroacetone" Asia-Pacific Symposium on Radiochemistry '09 (APSORC '09), Napa, USA, 2009 年 11-12 月.
- (26) Yoshimura T, Kikunaga H, Kuribayashi T, Takahashi N, Takahisa K, Haba H, Ezaki Y, Enomoto S, Mitsugashira T, Shinohara A, "Measurements of Mobility for Actinides and Lanthanides Using

Capillary Electrophoresis, and its Application to Short-Lived Nuclides" Asia-Pacific Symposium on Radiochemistry '09 (APSORC '09), Napa, USA, 2009年 11-12月.

(27) H. Haba, D. Kaji, Y. Kasamatsu, H. Kikunaga, Y. Komori, H. Kudo, Y. Kudou, K. Morimoto, K. Morita, Y. Nagame, K. Ooe, K. Ozeki, N. Sato, A. Shinohara, T. Sumita, A. Toyoshima, K. Tsukada, A. Yokoyama, A. Yoneda, and T. Yoshimura, "Present Status and Perspectives of Superheavy Element Chemistry at RIKEN" Asia-Pacific Symposium on Radiochemistry '09 (APSORC '09), Napa, USA, 2009年 11-12月.

(28) H. Haba, "Superheavy Element Nuclear Chemistry at RIKEN" The 7th Japan-China Joint Nuclear Physics Symposium, Tsukuba, Japan, 2009年 11月.

(29) 羽場宏光, 新元素の化学—反跳核分離装置を用いた新たな展開—平成 21 年度大洗研究会, 千代田区, 2009年 12月.

(30) 羽場宏光, "RIKEN Workshop on Superheavy Element Chemistry 2010" Present Status of RIKEN Facilities for SHE Chemistry –Facility Information for Beam Time Proposals–, 和光市, 2010年 2月.

(31) 福地 知則, 本村 信治, 武田 伸一郎, 金山 洋介, 羽場 宏光, 渡辺 恭良, 榎本 秀一, "デジタル波形解析による半導体コンプトンカメラの高度化" 日本物理学会第 65 回年次大会, 岡山, 2010年 3月.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得
なし

2. 実用新案登録
なし

3. その他
なし

腫瘍を標的とした高精度核医学プローブの開発に関する研究

分担研究者・北村陽二 金沢大学学際科学実験センター 准教授

研究要旨：OctreotideのN末端アミノ基にDTPAやDOTAを結合させ、 ^{111}In 、 ^{68}Ga 、 ^{90}Y 、 ^{64}Cu で標識した化合物は、ソマトスタチンレセプターを発現する腫瘍に対する画像診断薬やアイソトープ治療薬剤として、欧米でその有用性が認められている。しかし、これらの化合物は腫瘍以外に、正常な腎臓へ集積することが問題となっている。これまでに、報告者らは ^{111}In -DTPA-D-Phe¹-octreotideのN末端アミノ酸への負電荷の導入が、腎集積の低減に有効であることを提言してきた。本研究では、腎集積を低減した精度の高い診断、治療を可能とする優れた核医学プローブの開発を目的として、DOTA結合octreotideについて、N末端アミノ酸への負電荷の導入が及ぼす腎臓や腫瘍集積への影響を検討した。その結果、N末端アミノ酸をD-Asp2個に置換したDOTA-Asp-Asp¹-octreotideでは、腎集積が有意に低下することを見出した。さらに、担癌マウスを用いた検討において、腫瘍集積性も保持している可能性があることを明らかにした。本研究成果は、正常な腎臓への集積を低減した、高精度な核医学プローブの開発に有用な知見を与えるものと考えられる。

A. 研究目的

OctreotideのN末端アミノ基にDTPAやDOTAを結合させ、 ^{111}In 、 ^{68}Ga 、 ^{90}Y 、 ^{64}Cu で標識した化合物は、ソマトスタチンレセプターを発現する腫瘍に対する画像診断薬やアイソトープ治療薬剤として、欧米でその有用性が認められている。しかし、これらの化合物は腫瘍以外に、正常な腎臓へも集積するため、腎臓周辺の腫瘍への適用が困難であり、また、アイソトープ治療においては、腎集積による腎放射線障害を生じることが問題となっている。これまでに、報告者らは ^{111}In -DTPA-D-Phe¹-octreotideのN末端アミノ酸への負電荷の導入が、腎集積の低減に有効であることを提言してきた。そこで本研究では、腎集積を低減した精度の高い診断、治療を可能とする優れた核医学プローブの開発を目的として、DOTA結合octreotideについて、N末端アミノ酸への負電荷の導入が及ぼす腎臓や腫瘍集積性への影響を検討した。

B. 研究方法

B-1 試薬

4,7,10-tri-(*tert*-butyloxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1-yl-acetic acid (mDOTA) はMacrocyclics社製のものを用いた。O-*t*-butyl threoninol 2-chlorotriylresinはCalbiochem-Novabiochem社製のものを用いた。Fmoc-アミノ酸誘導体はペプチド研究所製のものを用いた。N,N-diisopropyl carbodiimide (DIPCDI) は東京化成工業社製、1-Hydroxy-1H-benzotriazole anhydrous (HOBt anhydrous) は和光純薬社製、N,N-dimethylformamide (DMF) はナカライテスク社製ものを蒸留して用いた。Indium chloride-111 (74 MBq/mL in 0.02 M HCl) は日本メジフィジックス社製のものを用いた。他の試薬は、原則として特級試薬を用いた。

B-2 装置

質量分析 (FAB-MS) の測定には、AutoSpec OA-T of (Micromass社) を用いた。非放射性化合物の逆相高速液体クロマトグラフィー (Reversed phase high-performance liquid chromatography; RP-HPLC) の実験において、化合物の分取時には、送液ポンプに、JASCO-PU-980 (日本分光社) を2台使用し、高圧グラジェント法により送液した。検出器には、紫外可視吸光光度計SPD-10A (島津製作所) を使い、データ処理にはクロマトデータ処理ソフトJASCO-BORWIN 1.5 (日本分光社) を用いた。ガードカラムには、COSMOSIL 5C₁₈-AR II column (size 10×20 mm、ナカライテスク社)、分取カラムにはCOSMOSIL 5C₁₈-AR II Column (size 20×250 mm、ナカライテスク社) を使用した。移動相には0.1% TFA / H₂Oとacetonitrileを用い、流速5 mL/minで、60分間でacetonitrileの割合を20から60%へ直線勾配で増加させた。また、化合物の分析時には、送液ポンプにLC-9A (島津製作所) を2台使用し、高圧グラジェント法により送液した。また、検出器には、紫外可視吸光光度計SPD-6A V (島津製作所)、記録計にはC-R6A CHROMATOP AC (島津製作所) を使用した。カラムには、COSMOSIL 5C₁₈-AR II column (size 4.6×150 mm、ナカライテスク社) を使用し、移動相には0.1% TFA / H₂Oとacetonitrileを用い、流速0.9 mL/minで、30分間でacetonitrileの割合を20から60%へ直線勾配で増加させた。放射性化合物のRP-HPLCによる分析では、送液ポンプにWaters 600E (ウォーターズ社) を使用し、低圧グラジェント法により送液した。カラムには、COSMOSIL 5C₁₈-MS column (size 4.6×150 mm、ナカライテスク社) を使用し、移動相には0.05 M acetate buffer (pH 5.5) とmethanolを用い、流速1 mL/minで、

グラジエント溶出した。最初の15分間でmethanolを0%に保ち、続く10分間でmethanolを0から65%に直線勾配で増加させ、最後の25分間はmethanolを65%に保った。また、溶出液をフラクションコレクター (FR AC200、Pharmacia Biotech社) を用いて、1分間隔で分取し、それぞれの画分の放射能を測定した。放射能の測定には、オートウェルカウンター (ARC 2000、Aloka社) を使用した。セルロースアセテート膜電気泳動 (cellulose acetate electrophoresis ; CAE) の実験では、セルロースアセテート膜にSeparax-SP (Joko社) を、パワーサプライにはPS1510 (アトー社)、泳動槽にはEC-100 (アドバンテック社) を用いた。マウスの尿と糞便を分別採取するため、代謝ケージ (CM-10S、日本クレア社) を使用した。⁶⁸Gaの分離精製には、陽イオン交換樹脂 (AG50W-X8、4×1 cm、BioRad社) を用いた。PET撮像には、MICROPET FOCUS 220 (SIEMENS社) を用いた。

B-3 実験操作

¹¹¹In-DOTA-octreotide誘導体の合成

(1) DOTA-octreotide誘導体の合成

Scheme 1に示すように、市販の*O*-*t*-butyl threoninol 2-chlorotriyl resin (置換率; 0.50 mmol/g) を出発原料として200 mg使用し、固相法により保護ペプチド鎖を延長させた。すなわち、以下に示す (A)、(B) の操作を繰り返し行った。(A) 2.5等量の側鎖保護Fmoc-アミノ酸誘導体、DIPCDI及びHOBt anhydrousを加え、DMF (1 mL) 中で2時間の縮合反応 (本縮合反応はKaiser Test¹²⁾ が陰性を示すまで繰り返した)。(B) 20% piperidine/DMF (2 mL) を加え、20分間攪拌し、Fmoc基を除去した。なお、Fmocアミノ酸誘導体には、Fmoc-Cys(Acm)-OH、Fmoc-Lys(Boc)-OH、Fmoc-D-Trp-OH、Fmoc-Phe-OH、Fmoc-D-Phe-OH、またはFmoc-D-Asp(OBu^t)-OHを用いた。*N*末アミノ酸であるD-Phe、D-Asp、またはD-Asp-D-Aspまで延長した後まで延長した後、2.5等量のmDOTA及びDIPCDIとHOBt anhydrousを加え、DMF (1 mL) 中で縮合反応を2時間行い、保護DOTA-D-Phe¹-octreotide樹脂 (1)、保護DOTA-D-Asp¹-octreotide樹脂 (2)、または保護DOTA-D-Asp-D-Asp¹-octreotide樹脂 (3) を得た。

次に、Scheme 2に示すように0°C以下に保ちながら、保護DOTA-D-Phe¹-octreotide樹脂 (1) (202.5 mg) に、thioanisole (810 μL) とTFA (8.1 mL) を順次加えた後、室温で2時間攪拌した。0°C以下に冷却した後、diethylether (9.0 mL) を加え、粗[Cys(Acm)^{2,7}]-DOTA-D-Phe¹-octreotide (3) を沈殿させた。沈殿物を6 M guanidine hydrochloride (5.3 mL) で抽出し、ガラスフィルターを用いて樹脂 (resin) を取り除いた。PTFEフィルター (Millex[®]-LH、MILLIPORE社) を用いた前処理を行った後、RP-HPLCにより精製した。検出波長230 nmでモニターし、目的物を含むフラクシヨ

ンを集め、凍結乾燥し、[Cys(Acm)^{2,7}]-DOTA-D-Phe¹-octreotide (3) (収量27.7 mg、収率17.9%) を白色粉末状物質として得た。

[Cys(Acm)^{2,7}]-DOTA-Asp¹-octreotide (5)については、保護DOTA-Asp¹-octreotide (2) (147.2 mg)、thioanisole (589 μL)、TFA (5.9 mL)、diethylether (9 mL)、6 M guanidine hydrochloride (5.3 mL) を用いて、上記と同様にし、羽毛状白色物質の[Cys(Acm)^{2,7}]-DOTA-Asp¹-octreotide (5)を得た。(収量; 34.81 mg、収率; 45.9%)

[Cys(Acm)^{2,7}]-DOTA-Asp-Asp¹-octreotide (6)については、保護DOTA-Asp-Asp¹-octreotide (3) (198.9 mg)、thioanisole (796 μL)、TFA (8.0 mL)、diethylether (9 mL)、6 M guanidine hydrochloride (5.3 mL) を用いて、上記と同様にし、羽毛状白色物質の[Cys(Acm)^{2,7}]-DOTA-Asp-Asp¹-octreotide (6)を得た。(収量; 19.16 mg、収率; 23.5%)

また、得られた[Cys(Acm)^{2,7}]-DOTA-D-Phe¹-octreotide (4)、[Cys(Acm)^{2,7}]-DOTA-Asp¹-octreotide (5)、[Cys(Acm)^{2,7}]-DOTA-Asp-Asp¹-octreotide (6)を、RP-HPLCにより分析したところ、それぞれ保持時間 11.9分、8.6分、9.1分にメジャーピークが観測された。

さらに、Scheme 3に示すように、[Cys(Acm)^{2,7}]-DOTA-D-Phe¹-octreotide (4) (1 mg, 0.65 μmol)、[Cys(Acm)^{2,7}]-DOTA-Asp¹-octreotide (5) (1 mg, 0.66 μmol)、[Cys(Acm)^{2,7}]-DOTA-Asp-Asp¹-octreotide (6) (1 mg, 0.61 μmol)、を80% acetic acid (324 μL) に溶解させ、20% I₂ / methanol (13.5 μL, 10.64 μmol) を加え、室温で30分攪拌した。その後、もう一度20% I₂ / methanol (7.0 μL, 5.52 μmol) を加え、さらに室温で30分攪拌した。1 M ascorbic acid水溶液を加え、過剰量のヨウ素を還元させ、PTFEフィルター (Millex[®]-LH、MILLIPORE Co.) を用いた前処理を行った後、RP-HPLCにより精製した。230 nmでモニターし、目的物を含むフラクシオンを集め、凍結乾燥し、DOTA-D-Phe¹-octreotide (7) (収量; 4.07 mg, 収率16.2%)、DOTA-Asp¹-octreotide (8) (収量2.29mg, 収率7.3%)、DOTA-Asp-Asp¹-octreotide (9) (収量2.64 mg, 収率15.1%) を白色羽毛状物質として得た。

また、得られたDOTA-D-Phe¹-octreotide (7)、DOTA-Asp¹-octreotide (8)、DOTA-Asp-Asp¹-octreotide (9) を、RP-HPLCにより分析したところ、Fig. 8~10に示すように、それぞれ、保持時間12.4分、9.3分、9.1分にメジャーピークが観測された。DOTA-D-Phe¹-octreotide : FAB-MS計算値; C₆₅H₉₃N₁₄O₁₇S₂(M+H)⁺: m/z 1406. 測定値; 1406、DOTA-Asp¹-octreotide : FAB-MS計算値; C₆₀H₈₉N₁₄O₁₉S₂(M+H)⁺: m/z 1373. 測定値; 1373、DOTA-Asp-Asp¹-octreotide : FAB-MS計算値; C₆₄H₉₄N₁₅O₂₂S₂(M+H)⁺: m/z 1488. 測定値; 1488.

(2) DOTA-octreotide誘導体の¹¹¹In標識

100 μgのDOTA-D-Phe¹-octreotide、DOTA-Asp¹-octreotide

ide、またはDOTA-Asp-Asp¹-octreotideを超純水(200 μL)に溶解した。さらに0.1 M 酢酸アンモニウム溶液で5倍希釈し、0.1 mg/mL の溶液を調製した。この溶液100 μL に¹¹¹InCl₃の0.02 M 塩酸溶液(3 μL)を加え、100°Cで1時間インキュベートした。その後、必要に応じてSPEカートリッジ(C₁₈, 1 mL-100 mg, SILICYCLE社)を用いて固相抽出による精製を行い、¹¹¹In-DOTA-D-Phe¹-octreotide(D-Phe体)、¹¹¹In-DOTA-Asp-Asp¹-octreotide(Asp体)、または¹¹¹In-DOTA-Asp-Asp¹-octreotide(Asp-Asp体)を得た。電気的性質の比較には、ここで得られたサンプルを用いた。また、体内放射能分布実験には、上記のサンプルを、0.1% BSAを含有する10 mM HEPES(2-[4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazinyl]ethanesulfonic acid) buffer(pH 7.6)で32倍に希釈して用いた。上記サンプルをRP-HPLCで分析したところ、D-Phe体、Asp体、またはAsp-Asp体は、それぞれ保持時間31分、30分、30分にメジャーピークが観測された(Fig. 11~13)。なお、調製した調製したD-Phe体、Asp体、Asp-Asp体の放射化学的純度は、それぞれ96.9%、99.0%、98.5%であり、これらを実験に使用した。

¹¹¹In-DOTA-octreotide誘導体の電気的性質

D-Phe体、Asp体、Asp-Asp体の電気的性質を比較するために、セルロースアセテート膜電気泳動(CAE)を行った。セルロースアセテート膜にSeparax-SP(Joko社)を用い、尿のpHに相当するpH 5.0、6.0、7.0及び血漿のpHに相当するpH 7.4の20 mM phosphate buffer中で60分間泳動した。

¹¹¹In-DOTA-octreotide誘導体の脂溶性

D-Phe体、Asp体、Asp-Asp体の脂溶性を比較するために、*n*-octanol/buffer分配比を以下のようにして求めた。

n-octanolとphosphate bufferを混合し、一晩放置して飽和させた。有機層及び水層からそれぞれ2 mLずつ採取し、シリコンコーティング(シリコナイズ L-25, Fuji System Corporation)したプラスチックチューブに移した後、D-Phe体、Asp体、またはAsp-Asp体の溶液(5 μL)を加えた。“1分間ボルテックス—1分間放置”の操作を3回繰り返した後、20分間放置した。この操作を3回繰り返し、3000 rpmで、5分間、遠心分離した。上層(*n*-octanol層)と下層(buffer層)をそれぞれ1 mLずつ採取し、それらの放射能を測定し、分配比(PC)を次式により算出した。

なお、bufferには、尿のpHに相当するpH 5.0、6.0、7.0及び血漿のpHに相当するpH 7.4の0.1 M phosphate bufferを用いた。

$$PC = [n\text{-Octanol層の放射能}] / [\text{buffer層の放射能}]$$

¹¹¹In-DOTA-octreotide誘導体の血漿中安定性

エーテル麻酔下で、6週齢のddY系雄性マウスから心臓採血し、ヘパリン処理した後、15分間、4°C、1500 rpmの遠心分離により、マウス血漿を調製した。マウス血漿(240 μL)に、D-Phe体(10 μL, 0.98 μg, 21.5 kBq)、Asp体(10 μL, 0.98 μg, 21.5 kBq)、またはAsp-Asp体(10 μL, 0.98 μg, 21.5 kBq)を添加し、37°Cでインキュベートした。1及び3時間後に試料溶液の一部を採取し、分画分子量10,000の限外濾過膜(Microcon-10, Amicon社)で濾過した後、RP-HPLCにより分析した。

ノーマルマウスにおける¹¹¹In-DOTA-octreotide誘導体の体内放射能分布

1群が5匹よりなる2群の6週齢ddY系雄性マウスに尾静脈よりD-Phe体(100 μL, 0.3 μg, 6.74 kBq)、またはGly-PAH体(100 μL, 0.3 μg, 6.74 kBq)を投与し、10分、1、3、6及び24時間後、断頭採血、解剖し、関心臓器(肝臓、腎臓、腸、胃、脾臓、膵臓及び肺)を摘出し、血液と関心臓器の重量と放射能を測定した。また、放射能の体外排泄経路と排泄量を調べるため、マウスを24時間、代謝ケージで飼育し、投与直後から24時間までに排泄された尿と糞便を採取し、それらの放射能を測定した。

尿の分析

採取した尿をPTFEフィルター(Millex[®]-LH, MILLIPORE社)を用いて夾雑物を除いた後、分画分子量10,000の限外濾過膜(Microcon-10, Amicon社)で濾過し、RP-HPLCにより分析した。

担癌マウスを用いた腫瘍集積性に関する検討

ソマトスタチンレセプターを高発現しているラット膵臓癌由来AR42J細胞株、また、口腔癌由来細胞であるHep-2細胞、SAS細胞を培養し、 5×10^6 個の細胞をBALB/c nu/nuマウスの肩および大腿部皮下に移植することで担癌マウスを作製した。作製した担癌マウスを用い、ノーマルマウスと同様の方法で、投与4時間後の体内放射能分布を検討した。

担癌マウスにおける⁶⁸Ga-PETイメージング

⁶⁸Ge/⁶⁸Gaジェネレータから1M HClで⁶⁸Gaを含む画分を溶出し、陽イオン交換樹脂(AG50W-X8, 4×1 cm)を用い、⁶⁸Gaを分離精製した。精製した⁶⁸Gaに1M HEPES buffer(pH 3.5)に溶解したDOTA-octreotide誘導体を添加し、microwave合成装置を用い、90°Cで15分間反応させることで⁶⁸Ga標識を行った。標識化合物は、Sep-Pac Vac C₁₈-Columnを用いた固相抽出法により精製した。

イソフルラン麻酔下、担癌マウスに⁶⁸Ga-DOTA-octreotide誘導体を尾静脈から注射し、投与後2時間撮像を行った。さらに、PET撮像終了後、解剖し、各臓器、腫瘍の重量と放射能を測定し、体内分布の検討

も行った。

(倫理面への配慮)

本研究は、倫理面にかかわる事項はない。

C. 研究結果

¹¹¹In-DOTA-octreotide誘導体の電気的性質

Fig. 1-1及び1-2には、¹¹¹In-DOTA-D-Phe¹-octreotide (D-Phe体)、¹¹¹In-DOTA-Asp¹-octreotide (Asp体) 及び¹¹¹In-DOTA-Asp-Asp¹-octreotide (Asp-Asp体) の電気的性質を比較するため、セルロースアセテート膜電気泳動法 (CAE) により分析した結果を示す。Fig. 1-1及び1-2に示すように、いずれのpHにおいても陽極側への移動度はD-Phe体<Asp体<Asp-Asp体の順に大きくなった。

¹¹¹In-DOTA-octreotide誘導体の脂溶性

Table 1にはD-Phe体、Asp体及びAsp-Asp体の*n*-octanol/buffer分配比 (PC) を示す。Table 1 に示すように、いずれの化合物の脂溶性も極めて低かった。さらに、化合物間で比較すると、D-Phe体>Asp体>Asp-Asp体の順に脂溶性が低かった。

¹¹¹In-DOTA-octreotide誘導体の血漿タンパク結合率

Table 2 には、各時間37°Cでインキュベートした後のD-Phe体、Asp体、及びAsp-Asp体の血漿タンパク結合率を示す。Table 2 に示すように、いずれの化合物もインキュベーション時間による血漿タンパク結合率の変動はみられなかった。また、化合物間で比較すると、負電荷を導入したAsp体及びAsp-Asp体は、D-Phe体に比べ、タンパク結合率が低かった。

¹¹¹In-DOTA-octreotide誘導体の血漿中安定性

Fig. 2 には、D-Phe体、Asp体及びAsp-Asp体をマウス血漿中でインキュベートし、RP-HPLCにより分析した結果を示す。縦軸には、0時間における未変化体の割合 (D-Phe体: 96.5%、Asp体: 98.2%及びAsp-Asp体: 94.0%) を100%に換算したときの未変化体の割合を示す。D-Phe体、Asp体及びAsp-Asp体はそれぞれ、インキュベート1時間後では96.6、98.9及び99.5%が、3時間後では96.8、97.0及び98.3%が未変化体として存在した。

¹¹¹In-DOTA-octreotide誘導体の体内放射能分布

Table 3~5には、それぞれ、D-Phe体、Asp体及びAsp-Asp体の体内放射能分布の結果を示す。

血液中の放射能は、いずれの場合も投与3時間後までにはほとんど消失し、速やかな血液からのクリアランスを観測した (Fig. 3)。また、いずれの場合も、腎臓において、他の臓器に比べて高い放射能集積が観測された。

腎放射能集積をD-Phe体とAsp体、Asp-Asp体とで比較すると、投与1時間後以降において、Asp体及びAsp-Asp体はD-Phe体よりも腎放射能集積が低い傾向があった。さらに、その低減の程度は、より負電荷数の多いAsp-Asp体のほうが、Asp体よりも大きかった。なお、Asp体は投与3及び24時間後において、Asp-Asp体は投与1時間後以降において、D-Phe体よりも有意に腎放射能集積が低下した (Fig. 5)。その他の臓器においては、有意差が認められるポイントはあるものの、放射能の集積量は、腎臓と比べると全体的に非常に少なかった。

また、投与して24時間後までに尿中および糞便中に排泄された放射能は、D-Phe体の場合には、それぞれ56.3%、14.2%、Asp体の場合にはそれぞれ70.1%、6.47%、Asp-Asp体の場合にはそれぞれ84.3%、5.26%であった (Fig. 6)。従って、投与24時間後までに体外に排泄された放射能の合計は、D-Phe体の場合には、70.5%、Asp体の場合には76.5%、Asp-Asp体の場合には89.5%であった。

尿の分析

D-Phe体、Asp体、またはAsp-Asp体を投与し、投与直後から24時間後までに排泄された尿の放射能をRP-HPLCにより分析した。D-Phe体の場合には、保持時間31分に、Asp体の場合には、保持時間30分に、Asp-Asp体の場合には、保持時間29分に、未変化体のもと考えられるメジャーピークを観測した。なお、検出された未変化体の割合は、D-Phe体、Asp体、Asp-Asp体で、それぞれ92.2、93.1、95.2%であった。

担癌マウスを用いた腫瘍集積性に関する検討

Fig. 7 には、D-Phe体、及びAsp-Asp体の担癌マウスにおける体内放射能分布の結果を示す。ノーマルマウスでの結果と同様、Asp-Asp体はD-Phe体よりも低い腎集積を示した。また、腫瘍への集積も確認できた。

担癌マウスにおける⁶⁸Ga-PETイメージング

Fig. 8 には、D-Phe体、及びAsp-Asp体の担癌マウスにおける⁶⁸Ga-PET画像を示す。¹¹¹In標識体での体内分布実験の結果と同様に、Asp-Asp体はD-Phe体よりも明らかに低い腎集積を示した。Fig. 8 には、D-Phe体、及びAsp-Asp体の担癌マウスにおける腎集積の定量解析の結果を示す。Fig. 8 に示す定量解析の結果からも、Asp-Asp体はD-Phe体よりも腎集積が低減していることが支持された。しかし、腫瘍への集積は確認できなかった。

D. 考察

キレート部分としてDTPAやDOTAを持つD-Phe-octreotide誘導体は、¹¹¹Inや⁹⁰Yのような3価の放射性金属と錯体を生成し、その錯体は、腫瘍診断薬や内用放